



**University of
Zurich**^{UZH}

**Zurich Open Repository and
Archive**

University of Zurich
University Library
Strickhofstrasse 39
CH-8057 Zurich
www.zora.uzh.ch

Year: 2020

Antimon und seine Verbindungen – Bestimmung von Antimonspezies in Urin mittels HPLC-ICP-MS. Biomonitoring-Methode

Hartwig, Andrea ; MAK Commission ; et al ; Arand, Michael

DOI: https://doi.org/10.34865/bi744036d5_1

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-201787>

Journal Article

Published Version



The following work is licensed under a Creative Commons: Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

Originally published at:

Hartwig, Andrea; MAK Commission; et al; Arand, Michael (2020). Antimon und seine Verbindungen – Bestimmung von Antimonspezies in Urin mittels HPLC-ICP-MS. Biomonitoring-Methode. The MAK Collection for Occupational Health and Safety, 5(1):Doc019.

DOI: https://doi.org/10.34865/bi744036d5_1

Antimon und seine Verbindungen – Bestimmung von Antimonspezies in Urin mittels HPLC-ICP-MS

Biomonitoring-Methode

B. Michalke¹
P. Schramel¹
T. Göen^{2,*}

A. Hartwig^{3,*}
MAK Commission^{4,*}

Keywords

Antimon, Speziesanalyse,
Antimonit, Antimonat,
Trimethylantimonium-Ion, Urin,
Biomonitoring, Anionenaus-
tauschchromatographie, induktiv
gekoppelte
Plasma-Massenspektrometrie,
HPLC-ICP-MS

- ¹ Entwickler der Methode, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Abteilung Analytische BioGeoChemie, Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg, Deutschland
- ² Leiter der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Henkestraße 9–11, 91054 Erlangen, Deutschland
- ³ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe, Deutschland
- ⁴ Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn, Deutschland

* E-Mail: T. Göen (thomas.goen@fau.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Abstract

The working group “Analyses in Biological Materials” of the Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area developed the presented biomonitoring method.

The analytical method described hereinafter consists of two sub-procedures and permits the determination of antimonite (Sb(III)) and antimonate (Sb(V)) as well as of trimethylantimony ion (Sb(V)) in urine. The limits of quantitation allow the quantification of the aforementioned antimony species both at occupational and environmental exposure levels.

The antimony species are separated by anion exchange chromatography, using two sub-procedures with different columns and eluents to quantify antimonite and antimonate or the trimethylantimony ion and antimonate. The isotope ¹²¹Sb is used for element-specific detection of the antimony species by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS).

Sample preparation is carried out by dilution of urine aliquots with the respective eluents and subsequent filtration. Calibration is performed using either mixed standards of the three antimony species or the standard addition method.

Citation Note:

Michalke B, Schramel P,
Göen T, Hartwig A, MAK
Commission. Antimon und seine
Verbindungen – Bestimmung
von Antimonspezies in
Urin mittels HPLC-ICP-MS.
Biomonitoring-Methode.
MAK Collect Occup Health
Saf. 2020 Mai;5(1):Doc019.
DOI: [10.34865/bi744036d5_1](https://doi.org/10.34865/bi744036d5_1)

Manuskript abgeschlossen:
12 Nov 2004

Publikationsdatum:
11 Mai 2020

License: This article is distributed
under the terms of the Creative
Commons 4.0 International
License. See license information
at [https://creativecommons.org/
licenses/by/4.0/](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



1 Kenndaten der Methode

Matrix Urin

Analytisches Messprinzip Anionenaustauschchromatographie-HPLC-ICP-MS

Parameter und entsprechende Arbeitsstoffe

Arbeitsstoffe	CAS-Nr.	Parameter	CAS-Nr.
Antimon und seine Verbindungen	7440-36-0 (Antimon)	Antimonit (Sb(III)), z. B. Sb(OH)_4^- oder SbO_2^-	–
		Antimonat (Sb(V)), z. B. Sb(OH)_6^- oder SbO_3^-	–
		Trimethylantimonium-Ion (Sb(V)), z. B. $(\text{CH}_3)_3\text{Sb(OH)}^+$	–

Zuverlässigkeitskriterien

Antimonit (Sb(III)) [Teilverfahren 1]

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 4,46 \%$
	Streubereich	$u = 12,4 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $1,4 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 6,66 \%$
	Streubereich	$u = 17,1 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $3,3 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 6$ Bestimmungen	
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 72,0 \%$
	bei einer Sollkonzentration von $2,0 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Nachweisgrenze:	$0,5 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	$1,7 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	

Antimonat (Sb(V)) [Teilverfahren 1]

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 5,01 \%$
	Streubereich	$u = 13,9 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $0,72 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	

Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 7,17 \%$
	Streubereich	$u = 18,4 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $1,2 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 6$ Bestimmungen	
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 91,1 \%$
	bei einer Sollkonzentration von $0,79 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Nachweisgrenze:	$0,4 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	$1,3 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	

Trimethylantimonium-Ion (Sb(V)) [Teilverfahren 2]

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 5,44 \%$
	Streubereich	$u = 15,1 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $3,1 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 7,90 \%$
	Streubereich	$u = 21,9 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $3,1 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 96,9 \%$
	bei einer Sollkonzentration von $3,2 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Nachweisgrenze:	$0,04 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	$0,14 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	

Antimonat (Sb(V)) [Teilverfahren 2]

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 4,39 \%$
	Streubereich	$u = 12,2 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $3,5 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	

Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 6,37 \%$
	Streubereich	$u = 17,7 \%$
	bei einer gemessenen Konzentration von $3,5 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 113 \%$
	bei einer Sollkonzentration von $3,1 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin und $n = 5$ Bestimmungen	
Nachweisgrenze:	$0,04 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	$0,13 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin	

2 Allgemeine Informationen zu Antimon und seinen Verbindungen

Antimon (Sb) ist ein silberglänzendes, sprödes Halbmetall, das im Periodensystem in der Gruppe 15 unter Arsen steht, dem es chemisch, physikalisch und toxikologisch sehr ähnlich ist. Es kommt mit ca. $0,3 \text{ mg/kg}$ in der Erdkruste vor und ist damit relativ selten. Der globale Antimonverbrauch lag im Jahr 2008 bei rund 160000 – 190000 t (Erdmann et al. 2011). Die hauptsächliche Verwendung von Antimon (60–70 %) besteht in der Nutzung von Antimontrioxid als Flammenschutzmittel, insbesondere in Kunststoffen, Gummi und Textilien sowie bei der Herstellung elektrischer und elektronischer Geräte. Weiterhin erhöht Antimon als härtender Legierungszusatz die Lebensdauer von Kraftfahrzeugbatterien. Darüber hinaus wird Antimon als Katalysator in der Polyethylenterephthalat (PET)-Herstellung verwendet. Auch in der Glas- und Keramikindustrie kommt Antimon in verschiedenen Verbindungen, sowohl zum Färben als auch zum Entfärben, zum Einsatz. Zu den sonstigen Verwendungsgebieten gehört die Herstellung von Kunststoffstabilisatoren, Pigmenten, Feuerwerk, Munition, Gleitlagern, Medikamenten, Pestiziden, Fluoreszenzlampe und Halbleitern. Insgesamt sind die letztgenannten Verwendungen quantitativ von untergeordneter Bedeutung (Erdmann et al. 2011).

Antimon wird vorwiegend aus Bergbau und Erzverhüttung sowie durch die metallverarbeitende Industrie, Verbrennungsprozesse und Munition in die Umwelt eingetragen und ist in fast allen umweltrelevanten Medien in geringen Konzentrationen nachweisbar.

Die tägliche Antimonaufnahme mit der Nahrung wird auf etwa $5\text{--}38 \mu\text{g}$ geschätzt (Domingo et al. 2012; Iyengar et al. 1987) und liegt damit unter dem TDI (*tolerable daily intake*) von $6 \mu\text{g/kg}$ Körpergewicht und Tag (WHO 2003). Diese Zahlen zeigen, dass die beruflich nicht exponierte Bevölkerung nur gering gegenüber Antimon exponiert ist, was sich auch in den sehr niedrigen Antimongehalten im Urin der beruflich nicht belasteten Bevölkerung widerspiegelt. So wurde von der Kommission ein BAR-Wert von $0,2 \mu\text{g}$ Antimon pro Liter Urin abgeleitet (Göen et al. 2020).

Am Arbeitsplatz steht die inhalative Aufnahme von antimonhaltigen Stäuben oder von Antimonwasserstoff als Gas im Vordergrund. Ingestion sowie dermale Resorption spielen bei der Exposition am Arbeitsplatz eine untergeordnete Rolle (Schaller 2003). Unabhängig von der Wertigkeit wird Antimon beim Menschen hauptsächlich über den Urin ausgeschieden (Gebel 1997). Für die renale Ausscheidung des Antimons (als Gesamt-Antimon gemessen) wurde bei Arbeitern eine kurze Halbwertszeit von etwa 34 Stunden sowie eine längere Halbwertszeit von etwa 90 Stunden ermittelt (Kentner et al. 1995).

Da die Toxizität von Antimonverbindungen sowohl von der Löslichkeit der jeweiligen Verbindung als auch von der Oxidationsstufe des Antimons abhängt (Greim 2006), ist eine Speziesbestimmung wichtig, um eine Antimonexposition korrekt zu bewerten. Die fünf- und die dreiwertigen Antimonspezies können unter physiologischen Bedingungen

ineinander umgewandelt werden (Godfrey et al. 1998). Darüber hinaus wurden auch methylierte Sb(V)-Spezies in Humanurin nachgewiesen (Krachler und Emons 2001; Quiroz et al. 2011; Ye et al. 2018). In der Literatur sind bislang nur wenige Daten zur Speziesanalyse im Humanurin publiziert, die in Tabelle 1 zusammengestellt sind.

Tab. 1 Daten zu Antimonspezies in Humanurin

Kollektiv	Probenanzahl	Antimongehalt [$\mu\text{g/l}$]				Literatur
		Antimon (gesamt)	Sb(V)	Sb(III)	$(\text{CH}_3)_3\text{Sb}(\text{OH})^+$	
Allgemeinbevölkerung	2	< 0,12	< 0,060	< 0,025	< 0,036–0,09	Krachler und Emons 2001
Arbeiter	2	5,1–8,3	2,0–5,9	< 0,025–0,15	0,40–0,57	
Allgemeinbevölkerung	1	n. a.	0,94	< 0,27	n. a.	Li et al. 2006
Belastete Allgemeinbevölkerung ^{b)}	8	< BG–6,3	< 0,60–6,2	< 0,62	< 0,59	Quiroz et al. 2011
Belastete Allgemeinbevölkerung ^{c)}	63	39 ^{a)}	8,1	0,1	31	Ye et al. 2018

^{a)} Wert aus graphischer Darstellung abgelesen.

^{b)} Industriegebiet in Chile, Belastungspfad nicht spezifiziert.

^{c)} Antimonabbau in China, Belastung über die Ernährung. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte.

In welcher Konfiguration die Antimonspezies tatsächlich im Urin vorliegen, ist nicht abschließend geklärt. Lintschinger et al. (1997, 1998) diskutieren, dass Sb(III) als Chelatkomplex im Urin vorliegt. Diese Chelatkomplexe werden nach Lintschinger et al. (1997, 1998), in dem auch in dieser Methode verwendeten EDTA-haltigen Laufmittel, vollständig zu EDTA-Komplexen umgesetzt. Das anorganische Sb(V) soll als $\text{Sb}(\text{OH})_6^-$ im Urin vorliegen und das dreifach methylierte Sb(V) als $(\text{CH}_3)_3\text{Sb}(\text{OH})^+$ (Hansen und Pegantis 2008).

Eine ausführliche toxikologische Beschreibung des Antimons kann der MAK-Begründung von 2006 entnommen werden (Greim 2006). Die Kommission hat Antimon und seine anorganischen Verbindungen in die Kanzerogenitäts-Kategorie 2 eingestuft sowie in die Kategorie 3B für Keimzellmutagene (DFG 2019). Aufgrund der Kanzerogenitäts-Einstufung kann für Antimon und seine Verbindungen kein BAT-Wert abgeleitet werden. Es liegt jedoch eine BAT-Begründung vor (Schaller 2003). Zudem wurde von der Kommission ein BAR-Wert abgeleitet, der bei $0,2 \mu\text{g}$ Antimon/l Urin liegt (Göen et al. 2020). Bei einer beruflichen Langzeitexposition sollte aufgrund der langen Eliminationshalbwertszeit des Antimons die Probenahme am Schichtende nach mehreren vorangegangenen Schichten erfolgen (Göen et al. 2020).

3 Grundlage des Verfahrens

Das nachfolgend beschriebene analytische Verfahren besteht aus zwei Teilverfahren und ermöglicht die Bestimmung der Antimonspezies Antimonit (Sb(III)), Antimonat (Sb(V)) sowie des Trimethylantimonium-Ions (Sb(V)). Die Bestimmungsgrenzen erlauben die Quantifizierung der genannten Antimonspezies sowohl im arbeitsmedizinischen als auch im umweltmedizinischen Bereich.

Die Antimonspezies werden mittels Anionenaustauschchromatographie voneinander getrennt, wobei in den beiden Teilverfahren unterschiedliche Säulen und Eluenten eingesetzt werden, um Antimonit und Antimonat bzw. Antimonat und das methylierte Sb(V) chromatographisch zu trennen. Die Antimonspezies werden elementspezifisch mittels ICP-MS auf dem Isotop ^{121}Sb detektiert.

Die Probenvorbereitung erfolgt durch Verdünnung des Urins mit dem jeweiligen Eluenten und anschließende Filtration. Die Kalibrierung erfolgt entweder mit Mischstandards der drei Antimonspezies oder unter Verwendung der Standardadditionsmethode.

4 Geräte, Chemikalien und Lösungen

4.1 Geräte

- HPLC-Anlage mit Gradientenpumpe, 6-Wege-Injektionsventil (z. B. Rheodyne®, Postnova Analytics GmbH, Landsberg am Lech) und 100 µl-Probenschleife aus Polyetheretherketon (PEEK); PEEK-Material für alle benutzbaren Oberflächen und Schläuche (z. B. Merck KGaA, Darmstadt)
- Plastikspritze mit Stahlinjektionsnadel für die HPLC (1 ml-Feindosierungsspritze (z. B. B. Braun Melsungen AG, Melsungen)) mit Nadel mit stumpfer Spitze für Kel-F-Ansatz (Luer Lock (z. B. Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz, Nr. 90516))
- Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (z. B. Elan® 5000, PerkinElmer Inc., Rodgau) mit pneumatischem Zerstäuber (z. B. MEINHARD®-Zerstäuber, PerkinElmer Inc., Rodgau)
- Analytische Säule (Teilverfahren 1): PRP-X100 250 mm × 4,6 mm × 5 µm (PEEK) (z. B. Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz, Nr. 79181) mit Vorsäule PRP-X 8 mm × 3 mm × 10 µm (PEEK) (z. B. Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz, Nr. 79354)
- Analytische Säule (Teilverfahren 2): IonPac™ AS4 250 mm × 4 mm × 13 µm (z. B. Dionex™, Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich, Nr. 35311) mit Vorsäule IonPac™ AG4 50 mm × 4 mm × 13 µm (z. B. Dionex™, Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich, Nr. 35310)
- 0,2 µm-Cellulosenitratfilter (z. B. Minisart RC 25, Sartorius AG, Göttingen)
- Präzisionswaage (z. B. Sartorius AG, Göttingen)
- pH-Meter (z. B. Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, Berlin)
- pH-Elektrode (z. B. Mettler-Toledo GmbH, Gießen)
- 15 ml-Polyethylenröhrchen (z. B. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg)
- Verschiedene Pipetten (z. B. Eppendorf AG, Hamburg)
- Verschiedene Messkolben und Bechergläser aus Polyethylen (z. B. VWR International GmbH, Darmstadt)

4.2 Chemikalien

Sofern nicht anders angegeben, sind alle genannten Chemikalien mindestens in p. a.-Qualität zu verwenden.

- Salpetersäure 65 %, Suprapur (z. B. Merck KGaA, Darmstadt, Nr. 100441)
- Trimethylantimondichlorid (Synthese nach Dood et al. (1992))
- Kaliumhexahydroxyantimonat(V), 99 % (z. B. Fluka™, Honeywell Deutschland Holding GmbH, Offenbach, Nr. 60500)
- Kaliumantimon(III)tartrat 3×H₂O, 99 % (z. B. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Nr. 230057)
- Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) (z. B. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Nr. 431788)
- Natriumchlorid, Suprapur (z. B. Merck KGaA, Darmstadt, Nr. 1.06406)
- Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH), 25 % (z. B. Tama Chemicals Co. Ltd., Japan, Nr. AA-TMAH)

- Ammoniaklösung 25 %, Suprapur (z. B. Merck KGaA, Darmstadt, Nr. 1.05428)
- Reinstwasser (z. B. Milli-Q®, Merck KGaA, Darmstadt)
- Argon 4.6 (z. B. Linde AG, Pullach)
- Urinreferenzmaterial (z. B. ClinChek®, RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, München)

4.3 Lösungen

Mobile Phasen für die HPLC

- Teilverfahren 1: 20 mM EDTA-Lösung (pH 4,7)

Genau 5,845 g EDTA werden in einen 1000 ml-Messkolben eingewogen. Nach Zugabe von etwa 980 ml Reinstwasser wird die Lösung durch Zugabe von 25%iger Ammoniaklösung (ca. 4 ml) auf pH 4,7 eingestellt. Da das vollständige Lösen des EDTA und die pH-Wert-Einstellung erst verzögert eintritt, sollten zunächst nur 2,5–3 ml der Ammoniaklösung zugegeben werden. Die weitere Zugabe sollte dann langsam und tropfenweise erfolgen. Anschließend wird der Kolben bis zur Markierung mit Reinstwasser aufgefüllt.
- Teilverfahren 2: 3 mM TMAH-Lösung mit 17 mM Natriumchlorid

Genau 1,07 ml der 25%igen Tetramethylammoniumhydroxidlösung (TMAH) werden in einen 1000 ml-Messkolben pipettiert und mit etwa 500 ml Reinstwasser versetzt. Nach Zugabe von genau 993,5 mg Natriumchlorid wird der Kolben bis zur Markierung mit Reinstwasser aufgefüllt.

Die jeweilige mobile Phase wird für jeden Analyselauf frisch hergestellt, vor Verwendung filtriert (0,45 µm-Cellulosefilter) und im Ultraschallbad für fünf Minuten entgast.

4.4 Kalibrierstandards

- Antimonit (Sb(III))-Stammlösung (200 mg Sb/l)

Genau 5,49 mg Kaliumantimon(III)tartrat werden in einen 10 ml-Messkolben eingewogen und in Reinstwasser gelöst. Der Kolben wird mit Reinstwasser bis zur Markierung aufgefüllt.
- Antimonat (Sb(V))-Stammlösung (200 mg Sb/l)

Genau 4,32 mg Kaliumhexahydroxyantimonat(V) werden in einen 10 ml-Messkolben eingewogen und in Reinstwasser gelöst. Der Kolben wird mit Reinstwasser bis zur Markierung aufgefüllt.
- Stammlösung des methylierten Sb(V) (200 mg Sb/l)

Genau 3,91 mg Trimethylantimondichlorid werden in einen 10 ml-Messkolben eingewogen und in Reinstwasser gelöst. Der Kolben wird mit Reinstwasser bis zur Markierung aufgefüllt.

Alle Stammlösungen werden in PE-Kolben angesetzt und im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Unter den angeführten Bedingungen sind die Stammlösungen mindestens 12 Monate haltbar.

- Zwischenverdünnung 1 (20 mg Sb/l)

Je 100 µl der Stammlösungen von Sb(III), Sb(V) und vom methylierten Sb(V) werden mit je 900 µl des jeweiligen Fließmittels für die HPLC (siehe Abschnitt 4.3) versetzt und gut durchmischt.

- **Zwischenverdünnung 2 (1 mg Sb/l)**
Je 50 µl der Zwischenverdünnung 1 von Sb(III), Sb(V) und vom methylierten Sb(V) werden mit je 950 µl des jeweiligen Fließmittels für die HPLC (siehe Abschnitt 4.3) versetzt und gut durchmischt.
- **Dotierlösung 1 (10 µg Sb/l)**
Je 50 µl der Zwischenverdünnung 2 von Sb(III), Sb(V) und vom methylierten Sb(V) werden mit je 4950 µl des jeweiligen Fließmittels für die HPLC (siehe Abschnitt 4.3) versetzt und gut durchmischt.
- **Dotierlösung 2 (0,2 µg Sb/l)**
Je 100 µl der Dotierlösung 1 von Sb(III), Sb(V) und vom methylierten Sb(V) werden mit je 4900 µl des jeweiligen Fließmittels für die HPLC (siehe Abschnitt 4.3) versetzt und gut durchmischt.

Alle Zwischenverdünnungen und Dotierlösungen werden tagesfrisch in PE-Gefäßen angesetzt und bis zur Verwendung bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

Kalibrierstandards im Konzentrationsbereich von 0,025–2 µg Sb/l werden in PE-Gefäßen in dem jeweiligen Fließmittel für die HPLC angesetzt. Dazu werden die Dotierlösungen gemäß dem in Tabelle 2 angegebenen Pipettierschema mit dem jeweiligen Eluenten zu einem Endvolumen von 1 ml gemischt.

Die Kalibrierstandards werden arbeitstäglich frisch, unmittelbar vor der Verwendung hergestellt, da es in den sehr niedrig konzentrierten Standardlösungen schnell zu einer Verschiebung der Speziesanteile kommen kann (Lindemann et al. 2000).

Tab. 2 Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards für die Antimonspeziesbestimmung in Urin

Kalibrierstandard	Dotierlösung 1 [µl]	Dotierlösung 2 [µl]	Mobile Phase [µl]	Konz. Kalibrierstandard [µg/l]
0	–	–	1000	0
1	–	125	875	0,025
2	–	250	750	0,05
3	–	500	500	0,1
4	–	1000	–	0,2
5	50	–	950	0,5
6	100	–	900	1,0
7	200	–	800	2,0

5 Probenahme und Probenaufbereitung

5.1 Probenahme

Die für die Probenahme verwendeten Polyethylengefäße werden dreimal mit 10%iger Salpetersäure und anschließend dreimal mit Reinstwasser gespült und trocken gelassen. Die gewonnenen Urinproben können, falls sie nicht sofort analysiert werden, bei 4 °C im Kühlschrank gelagert oder bei –18 °C tiefgefroren werden. Das bei der Aufbewahrung im Kühlschrank bzw. in der Gefriertruhe ausfallende Urinsediment enthält kein Antimon (Domingo et al. 2012). Allerdings bedeutet die ausschließliche Analyse des Überstandes eine – wenn auch nur geringfügige – Aufkonzentrierung der Probe. Aus diesem Grund, und weil gegenwärtig nur wenige Informationen zur Stabilität von Antimonspezies vorliegen, sollten die Urinproben möglichst bald nach der Probenahme aufgearbeitet und analysiert werden.

5.2 Probenaufbereitung

Da die gleichzeitige Bestimmung aller zu bestimmender Antimonspezies nicht möglich ist, werden die Urinproben jeweils in zwei Aliquote geteilt, die dann nach Teilverfahren 1 oder Teilverfahren 2 aufgearbeitet werden.

Die Probenvorbereitung für die Antimonspeziesbestimmung besteht in einer Verdünnung des Urins mit anschließender Filtration. Der Urin wird, je nach Konzentration der in der Probe vorliegenden Antimonspezies, im Verhältnis 1 : 3 bis 1 : 10 mit der für die jeweilige chromatographische Trennung eingesetzten mobilen Phase verdünnt. Anschließend wird der verdünnte Urin über einen 0,2 µm-Spritzenvorsatzfilter filtriert, um im Urin ausgefallene Partikel zu entfernen.

6 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

Die analytische Messung erfolgt an einer Gerätekombination bestehend aus einer HPLC gekoppelt an ein ICP-MS.

6.1 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie

Pumpe:	HPLC-Gradientenpumpe Beckman 127 (Beckman Coulter GmbH, Krefeld)
Injektor:	Rheodyne® (Postnova Analytics GmbH, Landsberg am Lech)
Injektionsvolumen:	100 µl-Probenschleife aus PEEK

Teilverfahren 1

Vorsäule:	Material:	PSDVB/Trimethylammonium
	Säulenfüllung:	PRP-X
	Länge:	8 mm
	Innerer Durchmesser:	3 mm
Trennsäule:	Partikelgröße:	10 µm
	Material:	PSDVB/Trimethylammonium
	Säulenfüllung:	PRP-X100
	Länge:	250 mm
	Innerer Durchmesser:	4,6 mm
Trennprinzip:	Partikelgröße:	5 µm
		Anionenaustausch
	Mobile Phase:	20 mM EDTA; pH 4,7
	Flussrate:	1,5 ml/min

Teilverfahren 2

Vorsäule:	Material:	Quaternäres Ammoniumsalz
	Säulenfüllung:	IonPac™ AG4
	Länge:	50 mm
	Innerer Durchmesser:	4 mm
	Partikelgröße:	13 µm
Trennsäule:	Material:	Quaternäres Ammoniumsalz
	Säulenfüllung:	IonPac™ AS4
	Länge:	250 mm
	Innerer Durchmesser:	4 mm
	Partikelgröße:	13 µm
Trennprinzip:		Anionenaustausch
Mobile Phase:		3 mM TMAH; 17 mM Natriumchlorid
Flussrate:		1,5 ml/min

6.2 Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

Die nachfolgend beschriebenen Einstellungen dienen als Orientierungshilfe. Diese Parameter müssen an jedem Gerät individuell optimiert werden. Gegebenenfalls sind an den Geräten anderer Hersteller zusätzliche Einstellungen notwendig.

Kopplung HPLC-ICP-MS:	direkt mit einer PEEK-Kapillare von der HPLC-Säule an den Zerstäuber
Zerstäubersystem:	MEINHARD®-Zerstäuber mit Zyklon-Zerstäuberkammer
ICP-MS:	ELAN® 5000, Perkin Elmer Inc., Rodgau
Leistung:	1200 W
Konen:	Nickel
Plasmagas:	15,0 l/min
Hilfsgas:	1 l/min
Zerstäubergas:	ca. 780 ml/min, täglich optimiert auf die Signalintensität des ¹²¹ Sb(V)
Datenaufnahme:	Isotop ¹²¹ Sb, Dwell-time 500 ms, üblicherweise 700 Wiederholungen (350 s Datenaufzeichnung mit zwei Datenpunkten pro Sekunde)
Datenauswertung:	ADL Chrommanager, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada

7 Analytische Bestimmung

Von den nach Abschnitt 5 aufgearbeiteten Proben werden jeweils 100 µl in das HPLC-ICP-MS-System injiziert. Bei jeder Analysenserie werden Reagenzienleerwerte (Reinstwasser bzw. die verwendete mobile Phase anstelle der Urinprobe) mitgeführt.

Besonders bei niedrigen Antimonkonzentrationen empfiehlt es sich, drei Wiederholungsmessungen pro Urinprobe durchzuführen. Das Analysenergebnis ergibt sich in diesem Fall aus dem Mittelwert der drei Messungen.

Die Abbildungen 1 und 2 (im Anhang) zeigen beispielhaft Chromatogramme für die Bestimmung der Antimonspezies mit Teilverfahren 1 bzw. Teilverfahren 2.

8 Kalibrierung

Die unter Abschnitt 4.4 beschriebenen Kalibrierstandards werden analog zu den Proben aufgearbeitet (siehe Abschnitt 5) und mittels HPLC-ICP-MS (siehe Abschnitt 6) analysiert. Die Kalibriergeraden werden erstellt, indem die Peakflächen der Analyten gegen die jeweilige Konzentration des Kalibrierstandards aufgetragen werden. Die Linearität der Kalibriergeraden ist unter den beschriebenen Bedingungen im Bereich von der Nachweisgrenze bis zu 1 µg Sb/l für alle Analyten gegeben. Die Linearität des Arbeitsbereichs wurde bis 2 µg Sb/l überprüft und bestätigt. In Abbildung 3 und Abbildung 4 (im Anhang) sind beispielhaft die Kalibriergeraden der Analyten im jeweiligen Fließmittel dargestellt.

Die Steigungen der in mobiler Phase angesetzten Kalibriergeraden unterscheiden sich von den entsprechenden in Urin angesetzten Kalibriergeraden. Wegen dieses Matrixeffektes wird eine Quantifizierung mittels Standardaddition empfohlen. Dazu werden Aliquote der jeweiligen Urinprobe mit ansteigenden Analytkonzentrationen dotiert. Die gewählten Konzentrationen sollten dabei jeweils etwa 30 % über der vorhergehenden Konzentration liegen.

9 Berechnung der Analysenergebnisse

Bei externer Kalibrierung werden die Analytgehalte einer Probe durch Einsetzen der ermittelten Peakflächen des ¹²¹Sb-Massenpeaks in die zur Analysenserie gehörenden Kalibrierfunktionen berechnet.

Bei Anwendung des Standardadditionsverfahrens ergeben die Flächenwerte der Analytpeaks eine Gerade, die bei Extrapolation bis $y = 0$ im Schnittpunkt mit der Abszisse den Antimongehalt der Probe in µg/l ergibt.

Eventuell vorliegenden Reagenzienleerwerten wird durch Subtraktion Rechnung getragen. Liegt ein Messergebnis oberhalb des Kalibrierbereiches, wird die Urinprobe mit dem jeweiligen Fließmittel im Verhältnis 1 : 10 verdünnt und erneut aufgearbeitet und analysiert.

10 Standardisierung und Qualitätssicherung

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer und den Angaben in dem von der Kommission veröffentlichten allgemeinen Kapitel verfahren (Bader et al. 2010; Bundesärztekammer 2014). Zur Präzisionskontrolle wird bei jeder Serie mindestens eine Qualitätskontrollprobe mit bekannten und konstanten Analytkonzentrationen mit untersucht. Dabei sollte der Analytgehalt des Qualitätskontrollmaterials im entscheidungsrelevanten Konzentrationsbereich liegen.

Der Entwickler dieser Methode hat als Qualitätskontrollmaterial lyophilisiertes ClinChek®-Urinreferenzmaterial der Firma RECIPE Chemicals + Instruments GmbH verwendet. Der gefriergetrocknete Urin wurde entsprechend den Angaben des Herstellers durch Zusatz von Reinstwasser rekonstituiert. Der Analytgehalt im rekonstituierten Urin betrug 12 µg Antimon (gesamt) pro Liter. Die einzeln quantifizierten Antimonspezies wurden als Summe mit dem vom Hersteller als Gesamtantimonwert angegebenen Gehalt verglichen (Angaben zu den Einzelspezies im

Referenzurin waren nicht verfügbar). Aliquote dieses Referenzmaterials wurden nach Abschnitt 5 aufgearbeitet und anschließend analysiert.

Die Sollwerte und die Toleranzbereiche des Qualitätskontrollmaterials werden im Rahmen einer Vorperiode ermittelt (Bader et al. 2010). Die Messwerte der mit jeder Analysenserie untersuchten Kontrollproben sollten innerhalb der ermittelten Toleranzbereiche liegen.

11 Beurteilung des Verfahrens

Die Zuverlässigkeit des Verfahrens wurde durch Messung von Vergleichsproben in zwei unabhängigen Laboren bestätigt.

11.1 Präzision in der Serie

Zur Ermittlung der Präzision in Serie wurden zum einen die nach Abschnitt 4.4 erstellten Kalibrierstandards verwendet. Das Material wurde mehrfach parallel aufgearbeitet und analysiert. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tab. 3 Präzision in der Serie für die Bestimmung von Antimonit und Antimonat sowie vom Trimethylantimonium-Ion und Antimonat unter Verwendung von Kalibrierstandards

Analyt	Konz. Kalibrierstandard [$\mu\text{g/l}$]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
Teilverfahren 1 (n = 10)			
Antimonit (Sb(III))	0,5	3,68	8,32
Antimonat (Sb(V))	0,5	4,12	9,32
Teilverfahren 2 (n = 6)			
Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	1,0	5,68	14,6
Antimonat (Sb(V))	1,0	3,28	8,43

Die Präzision in Serie wurde auch in Urin bestimmt. Für Teilverfahren 1 wurde dazu ein Urin mit einem Hintergrundgehalt von $0,29 \mu\text{g Sb(V)}$ pro Liter verwendet. Ein messbarer Hintergrundgehalt an Sb(III) lag nicht vor. Der Urin wurde mit $2,0 \mu\text{g Sb(III)}$ und $0,5 \mu\text{g Sb(V)}$ je Liter dotiert und in 1 : 3 Verdünnung fünffach vermessen. Auch für Teilverfahren 2 wurde die Präzision in Serie in Urin bestimmt. Nach Dotierung mit $1 \mu\text{g Antimon}$ pro Liter Urin in Form von Trimethylantimonidichlorid bzw. Sb(V) wurde dieser 1 : 10 mit dem Eluenten verdünnt und fünffach vermessen. Die bestimmten Präzisionsdaten sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tab. 4 Präzision in der Serie für die Bestimmung von Antimonit und Antimonat sowie vom Trimethylantimonium-Ion und Antimonat in Urin

Analyt	Dotierte Konzentration [µg/l Urin]	Gemessene Konzentration [µg/l Urin]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
Teilverfahren 1 (n = 5)				
Antimonit (Sb(III))	0	0	–	–
	2,0	1,44	4,46	12,4
Antimonat (Sb(V))	0	0,29	4,99	13,9
	0,5	0,72	5,01	13,9
Teilverfahren 2 (n = 5)				
Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	0	2,2	7,90	21,9
	1,0	3,1	5,44	15,1
Antimonat (Sb(V))	0	2,1	5,74	15,9
	1,0	3,5	4,39	12,2

11.2 Präzision von Tag zu Tag

Die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag erfolgte durch Aufarbeitung und Analyse von Kalibrierstandards sowie von aufdotierten Urinproben. Die ermittelten Präzisionsdaten für die beiden Teilverfahren sind den Tabellen 5 und 6 zu entnehmen.

Tab. 5 Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von Antimonit und Antimonat sowie vom Trimethylantimonium-Ion und Antimonat unter Verwendung von Kalibrierstandards

Analyt	Konz. Kalibrierstandard [µg/l]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
Teilverfahren 1 (n = 4)			
Antimonit (Sb(III))	0,5	4,23	13,5
Antimonat (Sb(V))	0,5	4,96	15,8
Teilverfahren 2 (n = 4)			
Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	1,0	5,81	18,5
Antimonat (Sb(V))	1,0	3,37	10,7

Tab. 6 Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von Antimonit und Antimonat sowie vom Trimethylantimonium-Ion und Antimonat in einem aufdotierten Urin

Analyt	Dotierte Konzentration [µg/l Urin]	Gemessene Konzentration [µg/l Urin]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
Teilverfahren 1 (n = 6)				
Antimonit (Sb(III))	3,3	2,35	6,66	17,1
Antimonat (Sb(V))	1,2	1,75	7,17	18,4
Teilverfahren 2 (n = 5)				
Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	1,0	3,1	7,90	21,9
Antimonat (Sb(V))	1,0	3,5	6,37	17,7

11.3 Richtigkeit

Zur Ermittlung der relativen Wiederfindungsraten wurden die Messwerte, die auch zur Berechnung der Präzision in Serie in Urin verwendet wurden, herangezogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tab. 7 Relative Wiederfindungsraten für die Bestimmung von Antimonit und Antimonat sowie vom Trimethylantimonium-Ion und Antimonat in Urin

Analyt	Sollwert [$\mu\text{g/l}$ Urin]	Messwert [$\mu\text{g/l}$ Urin]	Wiederfindung (rel.) [%]
Teilverfahren 1 (n = 5)			
Antimonit (Sb(III))	2,0	1,44	72,0
Antimonat (Sb(V))	0,79	0,72	91,1
Teilverfahren 2 (n = 5)			
Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	3,2	3,1	96,9
Antimonat (Sb(V))	3,1	3,5	113

11.4 Matrixeffekte

Zur Bestimmung der absoluten Wiederfindung für Teilverfahren 1 erfolgte eine Quantifizierung der im Urin gemessenen Peakflächen gegen die Standardkalibriergeraden. Dies ergab absolute Wiederfindungen von 34 % für Antimonit und von 25 % für Antimonat, also einen eindeutigen Matrixeffekt. Bei Teilverfahren 2 wurde kein Matrixeffekt gefunden, was wahrscheinlich an der gegenüber Teilverfahren 1 höheren Verdünnung des Urins liegt.

11.5 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Analyten wurden bei einem Signal/Rausch-Verhältnis von 3 bzw. 10 festgelegt unter Verwendung eines 0,5 $\mu\text{g/l}$ (Teilverfahren 1) bzw. 0,2 $\mu\text{g/l}$ (Teilverfahren 2) Kalibrierstandards. Es ergaben sich die in Tabelle 8 dargestellten Werte.

Tab. 8 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der untersuchten Antimonspezies, basierend auf einem 0,5 $\mu\text{g/l}$ (Teilverfahren 1) bzw. 0,2 $\mu\text{g/l}$ (Teilverfahren 2) Kalibrierstandard

Teilverfahren	Analyt	Nachweisgrenze [$\mu\text{g/l}$]	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/l}$]
1	Antimonit (Sb(III))	0,047	0,150
	Antimonat (Sb(V))	0,022	0,077
2	Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	0,014	0,046
	Antimonat (Sb(V))	0,006	0,021

In Urinmatrix lagen die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen höher als in reinen Standardlösungen und ergaben die in Tabelle 9 dargestellten Werte.

Tab. 9 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der untersuchten Antimonspezies in Urin

Teilverfahren	Analyt	Nachweisgrenze [$\mu\text{g/l}$]	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/l}$]
1	Antimonit (Sb(III))	0,5	1,67
	Antimonat (Sb(V))	0,4	1,33
2	Trimethylantimonium-Ion (Sb(V))	0,04	0,14
	Antimonat (Sb(V))	0,04	0,13

11.6 Störeinflüsse

Die Urinproben müssen vor der Analyse unbedingt filtriert werden, damit kein Urinsediment in das chromatographische System gelangt, wo es die Trennleistung und die Lebensdauer der analytischen Säule verringern würde.

Obwohl bei beiden Teilverfahren die Speziestrennung in wenigen Minuten beendet ist, sollte bei Teilverfahren 1 eine Injektion nur ca. alle zehn Minuten erfolgen, um ein Verschieben der Retentionszeiten (besonders des Sb(III)-Signals) zu vermeiden und der Trennsäule Zeit zur Regeneration zu geben.

Da Antimon in Spuren in Glas vorkommen kann, sollten keine Glasgeräte oder HPLC-Spritzen aus Glas verwendet werden. Dies würde, besonders bei der Verwendung alkalischer Eluenten, zu erhöhten Blindwerten und nicht reproduzierbaren Sb(V)-Messwerten führen (Lintschinger et al. 1998).

Sb(III)-Lösungen mit Konzentrationen im unteren ng/l-Bereich werden innerhalb von Stunden zu Sb(V) oxidiert. Um dies zu vermeiden, werden die Kalibrierstandards vor Verwendung frisch angesetzt. Bei Teilverfahren 1 führt die Verdünnung der Proben sowie der Standardlösungen mit der EDTA-haltigen mobilen Phase zu einer Komplexbildung und damit Stabilisierung des Sb(III) (Lintschinger et al. 1998).

Der im Rahmen der Methodenvalidierung für Teilverfahren 1 nachgewiesene Matrixeffekt zeigt, wie wichtig es ist, die Kalibration als Standardaddition auf die zu messenden Urinproben vorzunehmen. Die nach Abschnitt 4.4 hergestellten Kalibrierstandards dienen insofern vor allem dazu, die Linearität des Arbeitsbereiches sicherzustellen.

12 Diskussion der Methode

Die vorliegende Methode basiert auf der Methode von Lintschinger et al. (1997, 1998) und ermöglicht die Bestimmung von Antimonit (Sb(III)), Antimonat (Sb(V)) und Trimethylantimonium-Ionen (Sb(V)) in Urin durch Kopplung von Anionenaustauschchromatographie mit der Plasma-Massenspektrometrie. Die Kopplung erlaubt die nachweisstarke Bestimmung der Antimonspezies im Urin sowohl unbelasteter als auch beruflich belasteter Personen. Vor der Aufbringung einer Urinprobe auf die chromatographische Trennsäule wird der Urin mit dem jeweiligen Eluenten verdünnt und filtriert. Das HPLC-System ist über einen kurzen PEEK-Schlauch direkt mit dem Zerstäuber des ICP-MS verbunden. Das ICP-MS dient als äußerst nachweisstarker, elementspezifischer Detektor für die untersuchten Antimonspezies.

Speziestrennung, Präzision und Nachweisgrenzen in Standardlösungen und Urin sind zufriedenstellend. Allerdings können die drei Antimonspezies nicht in einem einzigen Trenngang analysiert werden, da zur Trennung von $(\text{CH}_3)_3\text{Sb}(\text{OH})^+$ und Antimonat andere Bedingungen nötig sind als zur Trennung von Antimonit und Antimonat. Bei der vorliegenden Methode handelt es sich also um zwei Verfahren, die verschiedene chromatographische Säulen und Eluenten verwenden und getrennt optimiert wurden. Somit ist es nötig, die Urinproben vor der Analyse in zwei Aliquote zu teilen, die jeweils mit einem der beiden Teilverfahren analysiert werden.

Das Antimonat wird dabei mit der Sb(III)/Sb(V)-Methode bestimmt (Teilverfahren 1), weil es mit diesem störungsfreier nachgewiesen werden kann, während das Trimethylantimonium-Ion mit Teilverfahren 2 bestimmt wird.

Im Teilverfahren 2 wurde mit der IonPac™ AS4 eine Säule verwendet, die auf einer quaternären Ammoniumaustauscherfunktion beruht, welche die Antimonspezies sehr gut trennen kann. Als Eluent wurde die in Lintschinger et al. (1998) erprobte mobile Phase verwendet. Um bei der Vermessung von Urinproben sowohl die Störung auf dem $(\text{CH}_3)_3\text{Sb}(\text{OH})^+$ -Signal (falsch positiv) zu minimieren, als auch die Signalsuppression des Antimonat-Signals (falsch negativ) gering zu halten, wurde dem Eluenten Natriumchlorid zugegeben. Als optimale Konzentration stellte sich dabei 17 mM Natriumchlorid heraus.

Die mit Teilverfahren 2 gemessene Antimonat-Konzentration ist etwas geringer als die mit Teilverfahren 1 ermittelte. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass die in Teilverfahren 2 (ohne Natriumchlorid im Eluenten) beobachtete Suppression des Antimonat-Signals auch bei 17 mM Natriumchlorid nicht quantitativ ausgeschlossen

werden kann. Antimonat sollte daher mit Teilverfahren 1 quantifiziert werden, wobei das Ergebnis aus Teilverfahren 2 zumindest zur Kontrolle herangezogen werden kann. Bei ausgedehnten Langzeitmessungen ist bei Teilverfahren 2 zu berücksichtigen, dass eine Natriumchloridkonzentration von 17 mM pro Liter einen schnelleren Verschleiß der Konen im ICP-MS hervorrufen kann.

Die untersuchten Spezies scheinen dem gesamten im Urin vorkommenden Antimon zu entsprechen, da sich bei der Methodenentwicklung keine Hinweise auf weitere Verbindungen ergaben. Auch bei längerem Spülen mit Natriumchloridlösung ergaben sich weder weitere Peaks noch ergab sich eine langgezogene Basislinienerhöhung. Allerdings kann es sein, dass gegebenenfalls vorliegende Monomethyl- und Dimethylantimon(V)verbindungen mit dem Trimethylantimonium-Ion eluieren. Da bei der hier vorgestellten HPLC-Methode auf Anionentauscher-Basis die methylierten Verbindungen knapp nach der Totzeit eluieren, war es nicht möglich, die Methylverbindungen weiter zu unterscheiden.

Verwendete Geräte HPLC-Anlage mit Gradientenpumpe (z. B. Beckmann 127, Beckman Coulter GmbH, Krefeld), 6-Wege-Injektionsventil (z. B. Rheodyne®, Postnova Analytics GmbH, Landsberg am Lech) und 100 µl-Probenschleife aus PEEK; Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (z. B. ELAN® 5000, Perkin Elmer Inc., Rodgau) mit pneumatischem Zerstäuber mit Zyklonsprühkammer (z. B. Meinhard®-Zerstäuber, Perkin Elmer Inc., Rodgau); Software zur Auswertung der Chromatogramme (z. B. ADL Chrommanager, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada).

Literatur

- Bader M, Barr D, Göen T, Schaller KH, Scherer G, Angerer J (2010) Zuverlässigkeitskriterien einer analytischen Methode. In: Angerer J, Hartwig A (Hrsg) Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd 2: Analysen in biologischem Material, 19. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim, 284–336. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.bireliabd0019](https://doi.org/10.1002/3527600418.bireliabd0019)
- Bundesärztekammer (2014) Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dt Ärztebl 111: A1583–A1618
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) (2019) MAK- und BAT-Werte-Liste 2019, Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 55. Wiley-VCH, Weinheim. DOI: [10.1002/9783527826155](https://doi.org/10.1002/9783527826155)
- Domingo JL, Perelló G, Giné Bordonaba J (2012) Dietary intake of metals by the population of Tarragona County (Catalonia, Spain): results from a duplicate diet study. J Biol Trace Elem Res 146: 420–425. DOI: [10.1007/s12011-011-9269-5](https://doi.org/10.1007/s12011-011-9269-5)
- Dood M, Grundy SL, Reimer KJ, Cullen WR (1992) Methylated antimony (V) compounds – Synthesis, hydride generation properties and implications for aquatic speciation. Appl Organomet Chem 6: 207–211. DOI: [10.1002/aoc.590060215](https://doi.org/10.1002/aoc.590060215)
- Erdmann L, Behrendt S, Feil M (2011) Kritische Rohstoffe für Deutschland – Anhang zum Abschlussbericht. Institut für Zukunftsstudien und Technologiebewertung (IZT), Adelphi, Berlin. <https://www.kfw.de/Download-Center/Konzernthemen/Research/PDF-Dokumente-Sonderpublikationen/Kritische-Rohstoffe-Anhang.pdf>, abgerufen am 12 Dez 2019
- Gebel T (1997) Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology. Chem Biol Interact 107: 131–144. DOI: [10.1016/S0009-2797\(97\)00087-2](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(97)00087-2)
- Godfrey SM, McAuliffe CA, Mackie AG, Pritchard RG (1998) Coordination chemistry and solution chemistry. In: Norman NC (Hrsg) Chemistry of arsenic, antimony and bismuth. Blackie Academic and Professional, London, 159–205
- Göen T, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2020) Antimon und seine anorganischen Verbindungen – Addendum zur Ableitung eines BAR. Beurteilungswerte in biologischem Material. MAK Collect Occup Health Saf 5: Doc011. DOI: [10.34865/bb744036d5_1](https://doi.org/10.34865/bb744036d5_1)
- Greim H (Hrsg) (2006) Antimon und seine anorganischen Verbindungen (einatembare Fraktion). In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 41. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: [10.1002/3527600418.mb744036d0041](https://doi.org/10.1002/3527600418.mb744036d0041)
- Hansen HR, Pergantis SA (2008) Analytical techniques and methods used for antimony speciation analysis in biological matrices. J Anal At Spectrom 23: 1317–1440. DOI: [10.1039/B807599A](https://doi.org/10.1039/B807599A)
- Iyengar GV, Tanner JT, Wolf WR, Zeisler R (1987) Preparation of a mixed human diet material for the determination of nutrient elements, selected toxic elements and organic nutrients: A preliminary report. Sci Total Environ 61: 235–252. DOI: [10.1016/0048-9697\(87\)90371-8](https://doi.org/10.1016/0048-9697(87)90371-8)
- Kentner M, Leinemann M, Schaller KH, Weltle D, Lehnert G (1995) External and internal antimony exposure in starter battery production. Int Arch Occup Environ Health 67: 119–123. DOI: [10.1007/bf00572235](https://doi.org/10.1007/bf00572235)

- Krachler M, Emons H (2001) Urinary antimony speciation by HPLC-ICP-MS. *J Anal At Spectrom* 16: 20–25. DOI: [10.1039/B007903K](https://doi.org/10.1039/B007903K)
- Li Y, Hu B, Jiang Z (2006) On-line cloud point extraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the speciation of inorganic antimony in environmental and biological samples. *Anal Chim Acta* 576: 207–214. DOI: [10.1016/j.aca.2006.06.018](https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.018)
- Lindemann T, Prange A, Dannecker W, Neidhart B (2000) Stability studies of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in water, urine, fish and soil extracts using HPLC/ICP-MS. *Fresenius J Anal Chem* 368: 214–220. DOI: [10.1007/s002160000475](https://doi.org/10.1007/s002160000475)
- Lintschinger J, Koch I, Serves S, Feldman J, Cullen WR (1997) Determination of antimony species with high-performance liquid chromatography using element specific detection. *Fresenius J Anal Chem* 359: 484–491. DOI: [10.1007/s002160050618](https://doi.org/10.1007/s002160050618)
- Lintschinger J, Schramel O, Kettrup A (1998) The analysis of antimony species by using ESI-MS and HPLC-ICP-MS. *Fresenius J Anal Chem* 361: 96–102. DOI: [10.1007/s002160050841](https://doi.org/10.1007/s002160050841)
- Quiroz W, Ariasa H, Bravo M, Pinto M, Lobos MG, Cortés M (2011) Development of analytical method for determination of Sb(V), Sb(III) and TMSb(V) in occupationally exposed human urine samples by HPLC-HG-AFS. *Microchem J* 97: 78–84. DOI: [10.1016/j.microc.2010.06.015](https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.06.015)
- Schaller KH (2003) Antimon und seine anorganischen Verbindungen. In: Lehnert G, Greim H (Hrsg) *Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA)*, 11. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. DOI: [10.1002/3527600418.bb744036d0011](https://doi.org/10.1002/3527600418.bb744036d0011)
- WHO (World Health Organization) (2003) Antimony in drinking-water – Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality. WHO, Geneva. https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/antimony.pdf, abgerufen am 15 Mai 2019
- Ye L, Qiu S, Li X, Jiang Y, Jing C (2018) Antimony exposure and speciation in human biomarkers near an active mining area in Hunan, China. *Sci Total Environ* 640–641: 1–8. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.05.267](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.267)

Anhang

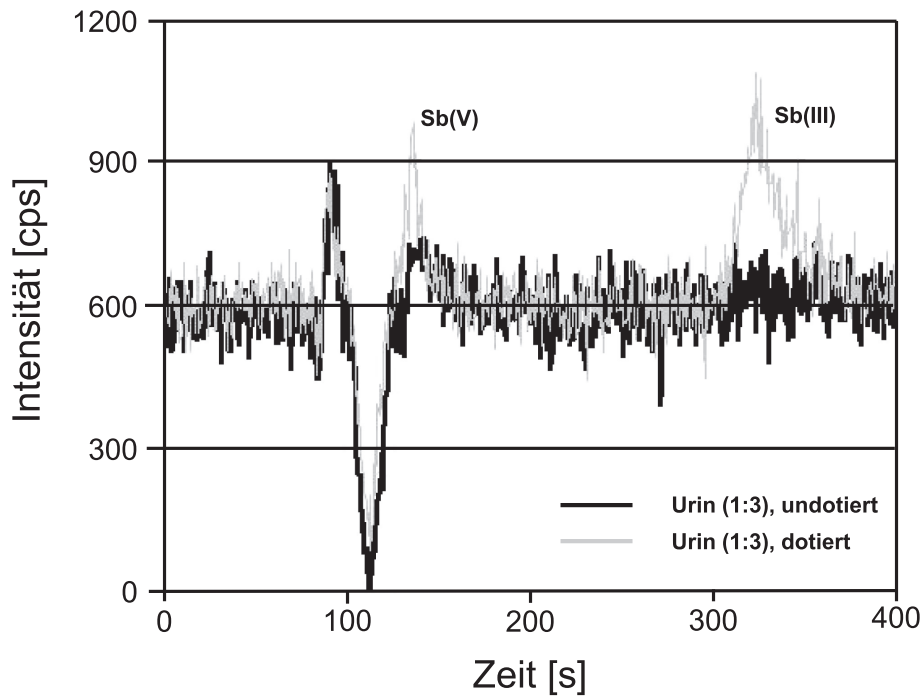


Abb. 1 Chromatogramm einer mit 1,1 µg/l Antimonit (Sb(III)) und 0,4 µg/l Antimonat (Sb(V)) dotierten Urinprobe (Teilverfahren 1)

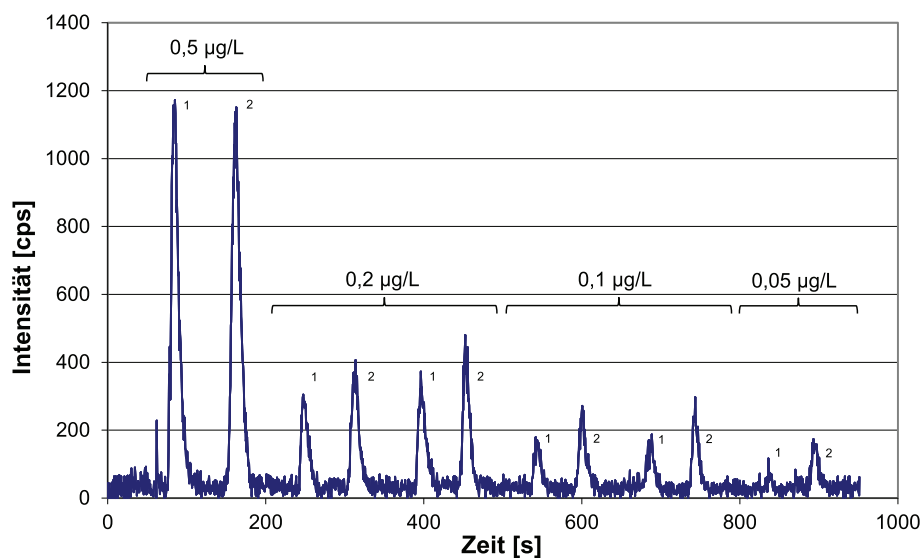


Abb. 2 Chromatogramm dotierter Urinproben im Konzentrationsbereich von 0,05–0,5 µg/l (Teilverfahren 2), Mehrfachinjektionen (1: Trimethylantimonium-Ion; 2: Antimonat)

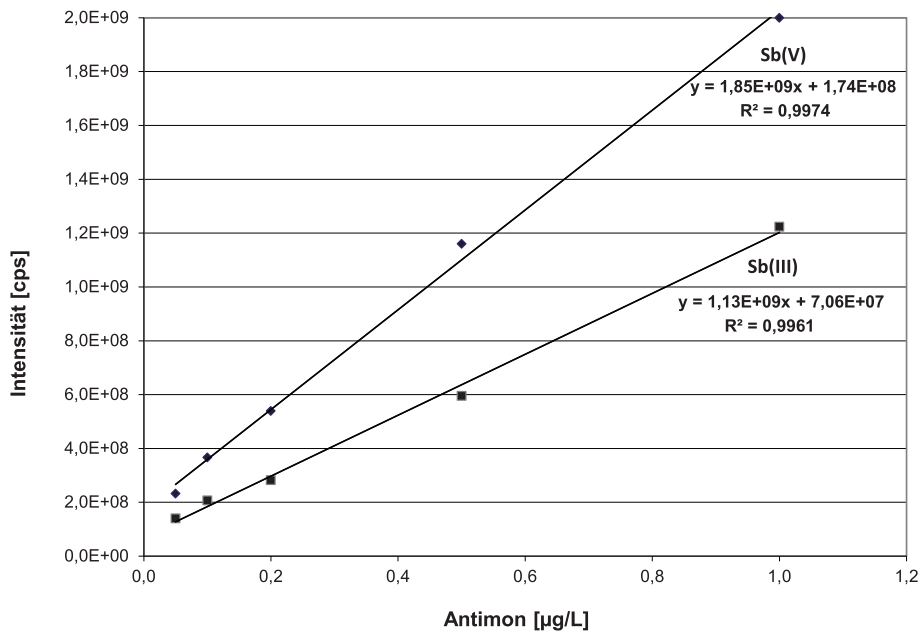


Abb. 3 Kalibriergerade von Antimonit (Sb(III)) und Antimonat (Sb(V)) im Fließmittel (Teilverfahren 1)

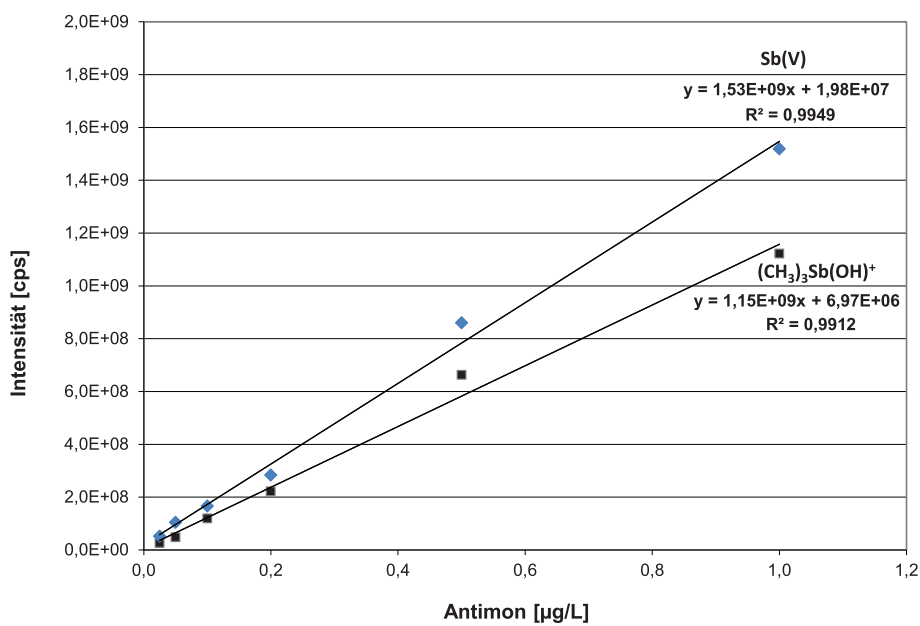


Abb. 4 Kalibriergerade von (CH₃)₃Sb(OH)⁺ und Antimonat (Sb(V)) im Fließmittel (Teilverfahren 2)